

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Allah SWT telah menciptakan buah-buahan dengan rasa dan aroma khas masing-masing, agar manusia dapat mengambil hikmah dan manfaatnya seperti yang disebutkan dalam QS. An Nahl ayat 11:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

*"Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan" (An Nahl: 11) (Abdilbarr, 2007).*

Buah-buahan sebagai salah satu bahan makanan yang mengandung sumber pengobatan. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa mengkonsumsi buah-buahan bermanfaat untuk mencegah penyakit yang berhubungan dengan penyakit degeneratif dan proses penuaan (Leong dan Shui, 2004).

Dewasa ini banyak penyakit-penyakit degeneratif disebabkan karena antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas (Arif, *et al.*, 2007; Leong dan Shui, 2002 *cit* Amrun *et al.*, 2007). Radikal bebas bersifat reaktif, dan jika tidak diinaktifkan akan dapat merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat (Langseth, 1995; Silalahi, 2002). Kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh pada dasarnya dapat diatasi oleh antioksidan endogen seperti enzim *catalase*, *glutathione peroxidase*, *superoxide dismutase*, dan *glutathione S-transferase*. Namun jika senyawa radikal bebas terdapat berlebih dalam tubuh, maka dibutuhkan pasokan antioksidan dari luar untuk menetralkan radikal yang terbentuk (Reynertson, 2007). Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antiradikal adalah kayu putih (Arif, 2011).

Tumbuhan kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L.) merupakan tanaman obat yang tumbuh di Indonesia, termasuk famili Myrtaceae (Soedibyo, 1998). Hampir semua bagian tanaman ini (kulit batang, daun, ranting, dan buah kayu putih) dapat dimanfaatkan sebagai obat (Hariana, 2006). Penelitian sebelumnya membuktikan ekstrak etanol buah *Melaleuca leucadendron* L memiliki aktivitas antiradikal kuat ( $IC_{50}$  6,074  $\mu$ g/ml) dengan metode DPPH (Arif, 2011) dan menurut Batubara *et al* (2010) bahwa ekstrak etanol 50% kayu putih (*Melaleuca cajuputi*) memiliki nilai  $IC_{50}$  5.76  $\mu$ g/mL. Sedangkan menurut Pino *et al* (2010) kayu putih memiliki aktivitas antiradikal dengan metode DPPH, diperoleh nilai  $EC_{50}$  yaitu  $2,3 \pm 0,2$  mg/ml yang disumbangkan oleh kandungan minyak atsiri. Selain itu, Kayu putih mengandung saponin, flavonoida dan tanin, di samping minyak atsiri (Thomas, 1992).

Salah satu upaya untuk mengoptimalkan kandungan senyawa dalam buah kayu putih yang berperan besar sebagai antiradikal belum diteliti. Menurut Dian (2007) pemisahan ekstrak dengan maserasi secara bertingkat akan melarutkan komponen-komponen aktif yang berbeda sesuai tingkat kepolaran pelarut polar, semi polar dan non polar yang digunakan. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan profil kandungan senyawa kimia pada hasil maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat dengan pelarut yang berbeda umumnya dapat mengekstrak jenis golongan senyawa yang berbeda dan mempengaruhi profil kandungan senyawa pada masing-masing maserat. Perbedaan profil kandungan kimia tersebut dimungkinkan berpengaruh terhadap aktifitas antiradikal. Sehingga dengan penelitian ini, diharapkan dapat diamati senyawa yang menyumbangkan aktivitas antiradikal.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah maserat polar, semi polar dan non polar ekstrak etanol buah kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L) memiliki aktivitas antiradikal dengan metode DPPH?

2. Bagaimanakah pengaruh maserasi bertingkat ekstrak etanol buah kayu putih (*Melaleuca leucandendron* L) terhadap profil kandungan senyawa kimia dengan GC-MS?
3. Bagaimanakah korelasi profil senyawa dalam maserat-maserat ekstrak etanol buah *Melaleuca leucadendron* L terhadap aktivitas antiradikal?

### C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menetapkan aktivitas antiradikal melalui parameter nilai  $IC_{50}$  dalam maserat polar, semi polar dan non polar ekstrak etanol buah kayu putih (*Melaleuca leucandendron* L) dengan metode DPPH.
2. Mengetahui pengaruh maserasi bertingkat ekstrak etanol buah kayu putih (*Melaleuca leucandendron* L) terhadap profil kandungan senyawa kimia dengan GC-MS.
3. Mengetahui korelasi profil senyawa dalam maserat-maserat ekstrak etanol buah *Melaleuca leucadendron* L terhadap aktivitas antiradikal.

### D. Tinjauan Pustaka

#### 1. Tanaman Kayu Putih (*Melaleuca leucadendron* L)

##### a. Klasifikasi Tanaman

Urutan klasifikasi dari tanaman kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L) adalah sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Ordo	: Myrtales
Familia	: Myrtaceae
Genus	: Melaleuca
Spesies	: <i>Melaleuca leucadendron</i> L (Tjitrosoepomo, 2002)

b. Nama daerah

Nama daerah tanaman kayu putih yaitu: di Jawa Barat disebut *Gelam* (Sunda), *Gelam* (Jawa Tengah), *Ghelam* (Madura), Di Kalimantan disebut *Calam*, *Baru Galang* (ujung pandang), *Waru Galang* (Bugis), *Elan* (Pulau Buru), dan *Ngelak* (Pulau Roti) (Thomas, 1992).

c. Khasiat dan kegunaan tanaman

Daun kayu putih yang direbus dapat digunakan sebagai obat sakit perut, rematik, nyeri pada tulang dan saraf (neuralgia), radang, usus, diare, batuk, demam, sakit kepala dan sakit gigi atau dimanfaatkan sebagai obat luar untuk radang kulit akzema dan sakit kulit karena alergi. Kulit kayu putih dapat dicampur dengan ramuan lain dalam penggunaannya. Misalnya untuk obat luka bernanah, kulit kayu putih dapat dicampur dengan sedikit jahe dan asem jawa lalu ditumbuk halus yang kemudian ditempelkan pada bagian yang luka (Hariana, 2006). Tanaman ini juga diketahui berkhasiat sebagai antioksidan (Frag *et al*, 2004; Pieno *et al*, 2010; dan Arif, 2011).

d. Kandungan kimia tanaman yang berpotensi sebagai antiradikal

Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavanoid, vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, katekin, dan resveratrol (Hernani dan Raharjo, 2006). Buah dan daun *Melaleuca leucadendra* mengandung saponin, flavonoida dan tanin, di samping minyak atsiri. Selain itu daun kayu putih juga mengandung *sineol* dan *melaleucin* (Thomas, 1992). Bagian tanaman yang telah diteliti sebagai antiradikal bebas adalah buah kayu putih yang memiliki komponen utama minyak atsiri (Pino *et al.*, 2010). Minyak atsiri dari kayu putih menunjukkan efek antioksidan yang dapat digunakan untuk menekan radikal bebas seperti vitamin E, vitamin C dan *superoxide dismutase* (Frag *et al*, 2004).

Profil fitokimia daun dan buah *Melaleuca leucadendra* L menggunakan GC dan GC-MS menunjukkan sebanyak 41 dan 64 senyawa atsiri yang teridentifikasi dengan kadar minyak atsiri dari minyak total adalah 99,2 dan 99,5%. Komponen utamanya adalah (10) 1,8-sineol (43,0%), (48) viridiflorol (24,2%), (23)  $\alpha$ -terpineol (7,0%), (2)  $\alpha$ -pinene (5,3%), dan (9) limonene (4,8%)

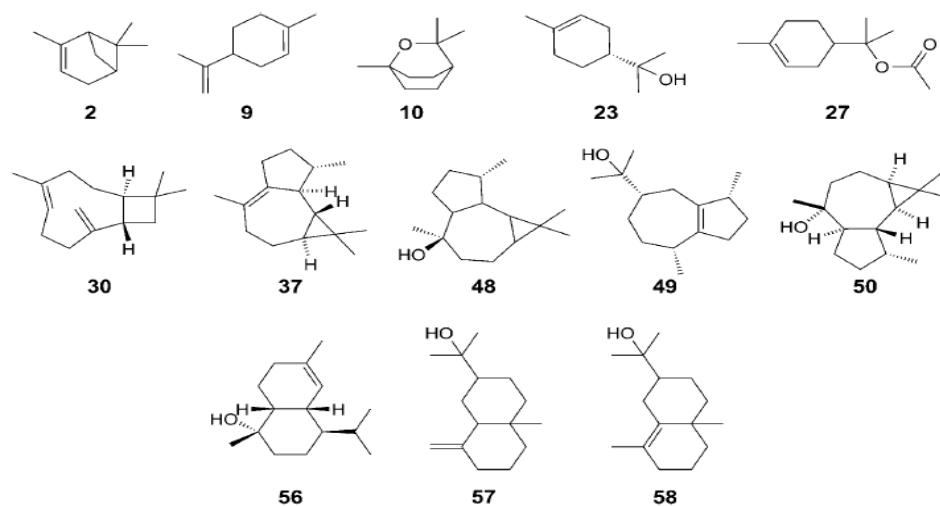
dalam minyak daun, dan (48) viridiflorol (47,6%), (50) globulol (5,8%), (49) guaiol (5,3%) dan (2)  $\alpha$ -pinene (4,5%) pada minyak buah (Pino *et al*, 2010) (Tabel 1 dan Gambar 1). Selain itu, kayu putih memiliki komponen lain seperti terlihat pada tabel 2 (Lohakachornpan *et al*, 2001).

**Tabel 1. Kandungan kimia minyak atsiri dari *Melaleuca leucadendron* L(Pino *et al*, 2010)**

No.	Komponen	KI <sub>DB-5</sub>	Leaf oil	Fruit oil
1	$\alpha$ -Thujene	929	trb)	tr
2	$\alpha$ -Pinene <sup>c)</sup>	940	5.3	4.5
3	Camphene	952	0.2	0.1
4	Benzaldehyde <sup>c)</sup>	961	0.3	0.3
5	$\beta$ -Pinene <sup>c)</sup>	979	2.7	0.9
6	Myrcene <sup>c)</sup>	992	0.2	tr
7	$\alpha$ -Terpinene	1017	tr	tr
8	$\rho$ -Cymene <sup>c)</sup>	1024	tr	0.1
9	Limonene <sup>c)</sup>	1029	4.8	3.9
10	1,8-Cineole <sup>c)</sup>	1032	43.0	3.6
11	(Z)- $\beta$ -Ocimene	1037	ndd)	tr
12	$\gamma$ -Terpinene <sup>c)</sup>	1062	0.3	0.1
13	Terpinolene <sup>c)</sup>	1089	0.2	0.1
14	Linalool <sup>c)</sup>	1098	0.4	tr
15	<i>endo</i> -Fenchol	1117	0.2	0.1
16	$\alpha$ -Campholenal	1124	nd	tr
17	<i>cis</i> - $\rho$ -Mentha-2,8-dien-1-ol	1136	tr	nd
18	<i>trans</i> -Pinocarveol	1139	0.2	0.1
19	neo-Isopulegol	1147	0.2	tr
20	Camphene hydrate	1150	0.1	tr
21	Borneol <sup>c)</sup>	1169	0.4	0.1
22	Terpinen-4-ol <sup>c)</sup>	1177	1.1	0.2
23	$\alpha$ -Terpineol <sup>c)</sup>	1189	7.0	0.9
24	1-Phenylethyl acetate <sup>c)</sup>	1195	tr	tr
25	<i>trans</i> -Carveol	1217	0.1	nd
26	Bornyl acetate <sup>c)</sup>	1289	tr	tr
27	$\alpha$ -Terpinyl acetate <sup>c)</sup>	1349	1.6	0.3
28	$\alpha$ -Copaene	1377	nd	0.1
29	Longifolene	1407	nd	0.1
30	$\beta$ -Caryophyllene <sup>c)</sup>	1419	0.1	1.8
31	Aromadendrene	1441	nd	0.1
32	$\alpha$ -Humulene <sup>c)</sup>	1455	tr	0.3
33	<i>allo</i> -Aromadendrene	1460	tr	0.3
34	$\gamma$ -Muurolene	1478	nd	0.2
35	$\beta$ -Selinene	1490	nd	1.3
36	<i>cis</i> - $\beta$ -Guaiene	1493	nd	0.3
37	Viridiflorene	1497	0.3	2.9
38	$\alpha$ -Muurolene	1502	nd	0.2
39	$\gamma$ -Cadinene <sup>c)</sup>	1514	nd	0.7
40	$\delta$ -Cadinene <sup>c)</sup>	1523	nd	1.0
41	<i>trans</i> -Calamenene	1529	nd	tr
42	<i>trans</i> -Cadina-1(2),4-diene	1534	nd	tr
43	$\alpha$ -Cadinene	1539	nd	0.1
44	$\alpha$ -Calacorene	1546	nd	tr

45	Ledol <sup>c)</sup>	1569	0.2	0.7
46	Caryophyllenyl alcohol <sup>c)</sup>	1572	nd	tr
47	Caryophyllene oxide <sup>c)</sup>	1582	1.8	2.8
48	Viridiflorol <sup>c)</sup>	1593	24.2	47.6
49	Guaiol	1600	0.2	5.3
50	Globulol <sup>c)</sup>	1605	2.4	5.8
51	Humulene epoxide II	1608	0.3	0.5
52	1- <i>epi</i> -Cubenol	1628	nd	tr
53	Eremoligenol	1630	nd	1.1
54	$\gamma$ -Eudesmol	1632	tr	1.2
55	Caryophylla-4(14),8(15)-dien-5 $\alpha$ -ol	1641	0.2	0.7
56	$\alpha$ -Muurolool	1646	0.4	1.8
57	$\beta$ -Eudesmol <sup>c)</sup>	1651	0.2	2.7
58	$\alpha$ -Eudesmol <sup>c)</sup>	1652	0.2	2.5
59	$\alpha$ -Cadinol	1654	0.2	0.6
60	$\alpha$ -Bisabolol oxide B	1658	nd	0.4
61	Bulnesol	1672	nd	0.6
62	Caryophyllene acetate <sup>c)</sup>	1701	nd	0.2
63	( <i>E</i> )-Nerolidol acetate <sup>c)</sup>	1718	nd	tr
64	(2 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-Farnesol	1725	nd	0.2
65	$\beta$ -Eudesmol acetate	1794	nd	tr
66	(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> )-Farnesyl acetate	1825	nd	0.1
Monoterpene hydrocarbons			13.9	9.7
O-Containing monoterpenes			54.8	5.4
Sesquiterpene hydrocarbons			0.4	9.3
O-Containing sesquiterpenes			30.5	75.0
<b>Total</b>			<b>99.5</b>	<b>99.4</b>

a) For details, see Exper. Part. b) tr=Trace (<0.1%). c) Identification by injection of an authentic sample and mass spectra. d) nd=Not detected.

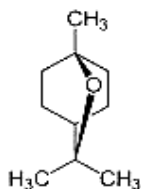


Gambar 1. Struktur komponen volatil minyak atsiri dari daun dan buah kayu putih (struktur no.2  $\alpha$ -Pinene, no.9 Limonene, no.10 1,8- Cineole, no.23  $\alpha$ -Terpineol, no.27  $\alpha$ -Terpinyl acetate, no.30  $\beta$ - Caryophyllene, no.37 Viridiflorene, no.48 Viridiflorol, no.49 Guinol, no.50 Globulol, no.56  $\alpha$ -Muurolool, no.57  $\beta$ -Eudesmol, no.58  $\alpha$ -Cadinol).

(Pino *et al*, 2010)

**Tabel 2. Komponen kimia minyak atsiri dari *Melaleuca leucadendra* (Lohakachornpan *et al*, 2001)**

No.Peak	Waktu retensi	Komponen	% Area
1	4.73	$\alpha$ - thujene	2.19
2	4.93	3- $\delta$ -carene	2.59
3	5.96	sabinene	0.45
4	6.11	$\beta$ - phellandrene	0.40
5	6.41	myrcene	0.65
6	6.98	$\alpha$ – phellandrene	7.61
7	7.33	2- $\delta$ -carene	8.53
8	7.61	o-cymene	1.46
9	7.74	limonene	2.12
10	7.96	( <i>E</i> -)- $\beta$ -ocimene	0.10
11	8.34	( <i>Z</i> -)- $\beta$ -ocimene	0.10
12	8.79	$\alpha$ - terpinene	22.55
13	9.84	terpinolene	29.21
14	10.53	linalool	0.72
15	11.56	<i>trans</i> - <i>para</i> -menth-2-en-1-ol	0.25
16	12.34	<i>trans</i> -sabinene hydrate	0.19
17	14.00	terpin-4-ol	0.10
18	14.46	<i>p</i> – cymene-9-ol	1.57
19	14.73	$\alpha$ – terpineol	0.17
20	15.34	<i>cis</i> – piperitol	0.05
21	20.99	$\delta$ – elemene	0.21
22	22.09	( <i>E</i> -)- isoeugenol	0.16
23	22.83	$\alpha$ – copaene	0.05
24	23.18	( <i>Z</i> -)- caryophyllene	1.44
25	23.53	$\beta$ – elemene	0.05
26	24.29	methyl eugenol	3.51
27	24.81	( <i>E</i> -)- caryophyllene	1.62
28	26.46	$\alpha$ - humulene	0.06
29	27.26	$\beta$ – patchoulene	2.52
30	27.61	$\beta$ – cubebene	0.24
31	27.98	viridiflorene	1.88
32	28.28	bicyclogermacrene	0.14
33	28.63	$\gamma$ - cadinene	0.27
34	28.79	$\alpha$ - bulnesene	1.96
35	29.08	$\delta$ – cadinene	0.45
36	29.31	elemol	0.20
37	30.79	germacrene B	0.32
38	30.99	spathulenol	0.18
39	31.94	globulol	0.51
40	32.30	$\beta$ – eudesmol acetate	<sup>a</sup> tr
41	32.66	guaiol	0.18
42	32.83	$\alpha$ – cadinol	<sup>a</sup> tr
43	33.08	isomenthone [2-(3-oxobutyl)-]	0.90
44	35.39	selin-11-en-4 $\alpha$ -ol	0.95
45	35.66	bulnesol	1.19



**Gambar 2. Struktur 1,8 *sineol***

*Sineol* atau eukaliptol merupakan senyawa kimia golongan ester turunan terpen alkohol atau monosiklik monoterpen eter (oxide) yang terdapat dalam minyak atsiri seperti kayu putih (Santos *et al*, 2003), dengan berat molekul 154,3, titik didih kurang lebih 176° (Anonim<sup>a</sup>, 1995).

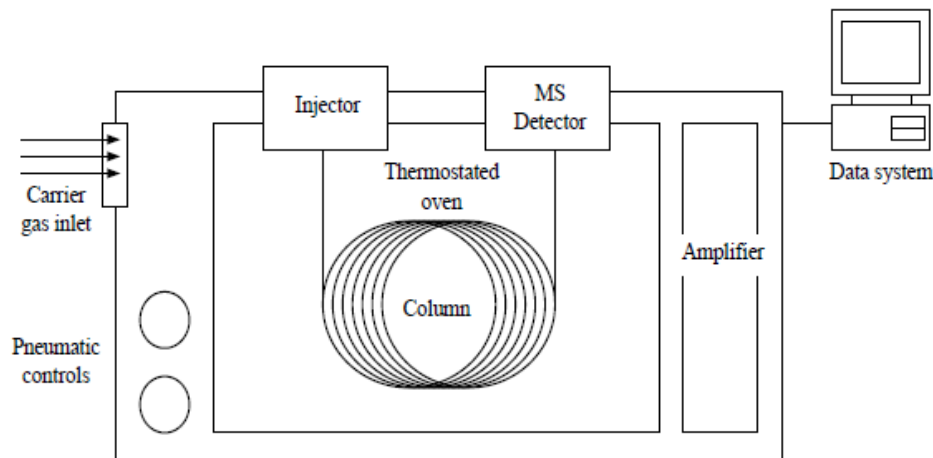
## **2. Analisis Profil Kandungan Senyawa Kimia Dengan GC-MS**

Profil kandungan senyawa kimia dapat diketahui dengan menggunakan kromatografi *GC-MS*. Metode *GC-MS* memiliki sensitivitas yang tinggi dan berperan dalam analisis secara kuantitatif maupun kualitatif senyawa menguap (Kaluzna, 2007). Senyawa-senyawa yang dapat ditetapkan dengan kromatografi gas harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian, utamanya pada 50-300°C (Mardoni, 2007). *GC-MS* merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit dan menghasilkan data mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Agusta, 2000).

*GC-MS* merupakan gabungan dua buah alat yaitu kromatografi gas dan spektrometri massa. *GC-MS* ini digunakan untuk mendeteksi massa antara  $m/z$  10 hingga  $m/z$  700 (Hartomo dan Purba, 1986 *cit* Yasmien *et al.*, 2008) (Gambar 3). Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel (Agusta, 2000). Prinsip kerja dari kromatografi gas terkait dengan titik didih senyawa yang dianalisis dan perbedaan interaksi analit dengan fase diam dan fase gerak. Senyawa yang mendidih pada temperatur yang lebih tinggi daripada temperatur kolom, menghabiskan hampir seluruh waktunya untuk berkondensasi sebagai cairan pada awal kolom. Senyawa dengan titik didih yang tinggi memiliki waktu retensi yang lama. Senyawa yang lebih terikat dalam fase cair pada permukaan fase diam juga memiliki waktu retensi yang lebih lama (Clark, 2007). Spektrometri massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing



molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000). Prinsip kerja spektrometri massa adalah menembak bahan yang sedang dianalisis dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spektrum fragmen ion positif. Fragmen-fragmen tersebut berkelompok sesuai dengan massanya (Hartomo dan Purba, 1986 *cit* Yasmien *et al.*, 2008).



**Gambar 3. Gas Chromatography Mass Spectroscopy (GC-MS)**

Beberapa unsur penting yang harus diperhatikan dalam sistem *GC-MS* adalah:

a. Gas pembawa

Gas pembawa yang dipakai adalah helium (He), argon (Ar), nitrogen (N<sub>2</sub>), hidrogen (H<sub>2</sub>), dan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>). Gas pembawa harus memenuhi sejumlah persyaratan, antara lain harus inert (tidak bereaksi dengan sampel, pelarut sampel, material dalam kolom), murni, dan mudah diperoleh (Agusta, 2000). Gas pembawa He (helium) paling umum digunakan karena ringan, relatif mudah dihilangkan dengan sistem pompa hampa. Helium mempunyai kelebihan lain yaitu potensial pengionannya tinggi (24,6 eV) pada kondisi pengaruh elektron, sehingga sumber ion spektrometer massa dapat dijalankan pada potensial yang lebih rendah (20-24 eV), tanpa mengionkan gas pembawa (Munson, 1991).

b. Kolom

Ada dua macam kolom, yaitu kolom kemas dan kolom kapiler. Kolom kemas adalah pipa yang terbuat dari logam, kaca, plastik yang berisi penyangga

padat yang inert sedangkan pada kolom kapiler terdapat rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa. Daya tarik yang paling diminati dari kolom kapiler ini adalah kehebatan daya pisahnya (Agusta, 2000). Kolom kapiler dibedakan menjadi 4 tipe yang didasarkan pada diameter sebelah dalamnya, yaitu *narrow bore* ( $\varnothing$  0,1 mm), *middle bore* ( $\varnothing$  0,22-0,25 mm), *semi wide bore* ( $\varnothing$  0,32 mm), dan *wide bore* ( $\varnothing$  0,50-0,53 mm). Berdasarkan pengalaman di laboratorium, analisis komponen minyak atsiri lebih disarankan menggunakan kolom kapiler *middle bore* sampai *semi wide bore* agar diperoleh hasil analisis yang memiliki daya pisah tinggi dan sekaligus memiliki sensitivitas yang tinggi pula (Agusta, 2000).

Berdasarkan sifat minyak atsiri yang nonpolar sampai sedikit polar, untuk keperluan analisis sebaiknya digunakan kolom dengan fase diam yang bersifat sedikit polar. Penggunaan kolom yang lebih polar menghasilkan sejumlah puncak yang lebar (tidak tajam) dan sebagian puncak tersebut juga membentuk ekor bahkan kemungkinan besar komponen yang bersifat nonpolar tidak akan terdeteksi sama sekali (Agusta, 2000). Fase diam lain yang biasa digunakan adalah RxiTM-1ms. Kolom RxiTM-1ms merupakan kolom *dimethyl polysiloxane* yang bersifat nonpolar. Kolom ini secara umum dapat ditujukan untuk analisis minyak atsiri, obat, senyawa hidrokarbon, pestisida, dan lain-lain (Anonim<sup>c</sup>, 2007).

#### c. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor utama penentu hasil analisis kromatografi gas dan spektrometri massa. Parameter yang sangat menentukan adalah pengaturan suhu injektor dan kolom (Agusta, 2000). Minyak atsiri didominasi oleh senyawa monoterpena dan fenol sederhana. Hasil pemisahan dapat memuaskan jika suhu kolom diprogram mulai dari 40° atau 50° C sampai 150° atau 200° C dengan kecepatan kenaikan suhu 2° - 4° C/menit, sedangkan suhu injektor dapat diprogram antara 150° dan 200°C (Agusta, 2000).

#### d. Sistem injeksi

GC-MS memiliki dua sistem pemasukan sampel, yaitu secara langsung (*direct inlet*) dan melalui sistem kromatografi gas (*indirect inlet*). Sampel

campuran seperti minyak atsiri, pemasukan sampel harus melalui sistem *GC*, sedangkan untuk sampel murni dapat langsung dimasukkan kedalam ruang pengion (*direct inlet*) (Agusta, 2000).

e. Detektor

Spektrometer massa pada sistem *GC-MS* berfungsi sebagai detektor itu sendiri yang terdiri dari sistem ionisasi dan sistem analisis. *Electron Impact (EI) ionization* adalah metode ionisasi yang umum digunakan untuk analisis spektrometer massa (Agusta, 2000).

Detektor lain dalam sistem *GC* adalah *Flame Ionization Detektor (FID)*. *FID* merupakan detektor non spesifik (Martono, 2008) dan kurang sensitif dibandingkan dengan *MS* (Lehrle *et al.*, 1999). Hasil penelitian Lehrle *et al* (1999) menunjukkan *MS* mampu meningkatkan respon *peak* secara signifikan dibandingkan dengan *FID* (Lehrle *et al.*, 1999). *FID* memberikan tanggapan terhadap sebagian besar senyawa kecuali air, senyawa anorganik dan beberapa senyawa organik tertentu seperti karbon disulfida (Munson, 1981). Detektor *MS* sangat spesifik terutama untuk konfirmasi mutlak terhadap keberadaan suatu senyawa (Martono, 2008). Kedua detektor ini merupakan detektor yang destruktif. *FID* bekerja berdasarkan pada pembakaran rantai karbon (Munson, 1991) dan *MS* bekerja dengan menembak bahan yang dianalisis dengan berkas elektron berenergi tinggi (Hartomo dan Purba, 1986 *cit* Yasmien *et al.*, 2008).

f. Sistem pengolahan data dan identifikasi senyawa

Analisis *GC-MS* memberikan dua informasi dasar yaitu hasil analisis kromatografi gas dalam bentuk kromatogram dan hasil analisis spektrometri massa dalam bentuk spektrum massa. Kromatogram menunjukkan jumlah komponen kimia dalam campuran yang dianalisis dan spektrum massa menunjukkan jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu komponen kimia (Agusta, 2000).

Menurut Pieno *et al* (2010), analisis minyak atsiri dari buah *Melaleuca lecanadendron* L telah dilakukan menggunakan *GC-MS* (Shimadzu-*GCMS* QP2010S *mass selective detector*), kolom kapiler *DB-5* (30 m x 0,25 mm, ketebalan lapisan 0,25  $\mu$ m), sistem elektron ionisasi dengan energi ionisasi 70 eV

dan *mass range* 35 - 400 amu digunakan untuk deteksi *GC-MS*, injeksi dengan ratio split 1 : 50, helium pada *flow rate* 1,0 mL/menit digunakan sebagai gas pembawa. Injektor dan *MS transfer line* suhunya masing-masing diatur pada 230°C. Temperatur kolom dijaga pada 60°C lalu secara perlahan ditingkatkan sampai 230°C dengan peningkatan 3°C/menit kemudian dilakukan pada suhu *isothermal* selama 30 menit.

### E. Landasan Teori

Buah dan daun *Melaleuca leucadendron* L mengandung saponin, flavonoida, tanin dan kandungan utama yaitu minyak atsiri. Selain itu daun kayu putih juga mengandung *sineol* dan *melaleusin* (Thomas, 1992). Ekstrak etanol buah *Melaleuca leucadendron* L diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (menggunakan metode DPPH) dengan  $IC_{50}$  6,074 µg/mL (Arif, 2011).

Profil fitokimia daun dan buah *Melaleuca leucadendra* L menggunakan *GC* dan *GC-MS* menunjukkan sebanyak 41 dan 64 senyawa atsiri yang teridentifikasi dengan kadar minyak atsiri dari minyak total adalah 99,2 dan 99,5%. Komponen utama 1,8-sineol (43,0%), viridiflorol (24,2%),  $\alpha$ -terpineol (7,0%),  $\alpha$ -pinene (5,3%), dan limonene (4,8%) dalam minyak daun, dan viridiflorol (47,6%), globulol (5,8%), guaiol (5,3%), dan  $\alpha$ -pinene (4,5%) pada minyak buah. Beberapa kandungan minyak atsiri dari buah kayu putih memiliki aktivitas antioksidan (menggunakan metode DPPH) dengan nilai  $EC_{50}$  yaitu  $2,3 \pm 0,2$  mg/ml (Pino *et al*, 2010).

Prosedur pemisahan ekstrak dengan maserasi bertingkat akan melarutkan komponen-komponen aktif yang berbeda sesuai tingkat kepolaran pelarut polar, semi polar dan non polar yang digunakan (Dian, A., 2007; Sousa *et al*. 2008). Menurut Houghton dan Raman (1998), ekstrak heksana (nonpolar) mengandung komponen yang bersifat nonpolar seperti lilin, lemak, dan minyak atsiri, sedangkan ekstrak etilasetat (semipolar) sebagian besar mengandung senyawa-senyawa alkaloid, aglikon-aglikon, dan glikosida. Ekstraksi dengan etanol dapat mengekstrak fenolik, steroid, terpenoid, alkaloid, dan glikosida. Maserasi terhadap ekstrak buah kayu putih menyebabkan terdistribusinya senyawa kimia, distribusi

senyawa terutama komponen minyak atsiri dalam *Melaleuca leucadendron* L dapat berpengaruh terhadap aktivitas antiradikal. Minyak atsiri bersifat nonpolar sampai sedikit polar (Agusta, 2000), sehingga minyak atsiri tersebut cenderung masuk ke dalam fraksi nonpolar (Adnan, 1997).

#### **F. Hipotesis**

Maserasi bertingkat ekstrak buah kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L) berpengaruh terhadap profil kandungan senyawa kimia dan aktivitas antiradikal.